

Aus der medicinischen Klinik des Prof. Sahli in Bern.

Ueber
die antagonistischen Wirkungen
des
Bacillus fluorescens liquefaciens
und
seine hygienische Bedeutung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

einer

hohen medizinischen Fakultät der Universität Bern

vorgelegt von

Lydie Olitzky geb. **Chalutin**
aus Woronesch (Russland).

Bern.

Buchdruckerei Stampfli, Lack, Scheim & C^o.

1891.

Auf Antrag des Herrn Professor *Sahli* von der
medizinischen Fakultät zum Drucke genehmigt.

Bern, den 15. Juli 1891.

Der Dekan:
Dr **E. Pflüger.**

Aus der medicinischen Klinik des Prof. Sahli in Bern.

Ueber
die antagonistischen Wirkungen
des
Bacillus fluorescens liquefaciens
und
seine hygienische Bedeutung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

einer

hohen medizinischen Fakultät der Universität Bern

vorgelegt von

Lydie Olitzky geb. Chalutin
aus Woronesch (Russland).

Bern.

Buchdruckerei Stampfli, Lack, Scheim & C^{ie}.
1891.

Ueber die antagonistischen Wirkungen
des
Bacillus fluorescens liquefaciens
und
seine hygienische Bedeutung.

Aus der medizinischen Klinik des Prof. Sahli in Bern von Lydia Olitzky geb. Chalutin.

Die ersten Thatsachen, welche das Gebiet betreffen, das man heute als Antagonismus der Bacterien zu bezeichnen pflegt, wurden schon von Pasteur beobachtet. Dahin gehört z. B. die Erfahrung, dass der Milzbrandbacillus auf einer Bouillon, welche als Nährmedium für Hühnercholera kulturen gedient hat, nicht mehr gut gedeiht.

Etwas eingehender befasste sich mit dieser Frage Soyka, der auf der 58. Naturforscherversammlung 1885 in Strassburg,¹⁾ allerdings nur kurz, über die Entwicklung von pathogenen Spaltpilzen unter dem wechselseitigen Einfluss ihrer Zersetzungsprodukte referirte.

Die Mittheilung von Soyka wurde, da eine ausführliche gedruckte Mittheilung bis zum Jahr 1885 unterblieb, von späteren Autoren übersehen; erst im Jahre 1888 publicirte Soyka seine Resultate zusammen mit Bandler.²⁾

¹⁾ Tageblatt der 58. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Strassburg 1885.

²⁾ Fortschritte der Medizin 1888, Nr. 20, pag. 169.

Die Arbeit, auf welche gewöhnlich die Lehre von dem sog. Antagonismus der Bakterien zurückgeführt wird, weil sie zuerst die in Frage stehenden Erscheinungen unter diesem Namen beschrieb und sie vielleicht gerade durch diese Bezeichnung bekannt machte, war bekanntlich diejenige von Garré.¹⁾

Garré bezeichnet als Antagonismus einer Bakterienart gegen eine andere den entwicklungshemmenden Einfluss, welchen dieselbe bei ihrem Wachsthum auf künstlichen Nährmedien gegen eine andere auf demselben Medium ausgesäete Species entfaltet und welcher nach der Versuchsanordnung Garrés auf die Imprägnirung des Nährbodens mit den Stoffwechselprodukten der ersten Art zurückgeführt werden muss. Garré unterscheidet einen gegenseitigen und einen einseitigen Antagonismus; diese Namen sind ohne weiteres verständlich: Beim gegenseitigen Antagonismus wirkt jeder der untersuchten Microorganismen hemmend auf den anderen, während beim einseitigen Antagonismus eine solche Hemmung nur von dem einen ausgeübt wird.

Die Resultate von Garré lassen sich dahin zusammenfassen, dass der *Bacillus fluorescens putidus* ein ausgesprochener Antagonist des *staphylococcus aureus*, des friedländerschen *Pneumoniococcus* und des *Typhusbacillus* ist, dass er, wenn auch in geringem Masse, antagonistisch wirkt gegen den *Bacillus Cholerae asiaticae*, den *Bacillus Mycoides* u. A., während der *Bacillus Anthracis* und der Finkler-Prior'sche *Bacillus* nicht beeinflusst werden. Gegenseitig ist der Antagonismus nur zwischen dem *Bacillus fluorescens putidus* und dem *Typhusbacillus*.

Die Versuchsanordnungen, deren sich Garré bediente, waren folgende: die Bakterien, deren antagonistische Wirkung auf andere untersucht werden sollte, wurden, sofern sie die Gelatine nicht verflüssigen, auf gewöhnlicher Nährgelatine, sofern sie diese verflüssigen, auf Bouillon gezüchtet. Im ersten Fall wurde durch Herausstechen der ganzen Kultur mittelst

¹⁾ Korrespondenzblatt für Schweizer Aerzte 1889, Nr. 16.

einer Platinspatel der Nährboden von den Bakterien wieder befreit, im zweiten Fall geschah dies vermittelst Filtration durch Thoncylinder, wobei dann nachher das Filtrat durch Zusatz von Gelatine fest gemacht wurde. Auf diesen sterilen aber durch die erste Bakterienvegetation chemisch veränderten Nährböden wurde nun die zweite Bakterienart ausgesät.

Eine weitere sehr instruktive Methode Garrés, um den Antagonismus nachzuweisen, bestund darin, dass er die beiden Bakterienarten strichförmig neben einander alternirend auf Gelatineplatten impfte, wobei er Sorge trug, dass die Distanz der Striche immer grösser wurde. Falls eine hemmende Beeinflussung stattfand, so war dieselbe sofort kenntlich und zwar am deutlichsten bei den sich am nächsten stehenden Impfstrichen; auch der wechselseitige Antagonismus kam dabei zum Vorschein.

Garré glaubte, dass die Thatsachen des Antagonismus der Bakterien uns vielleicht einmal den Weg weisen könnten zur Erklärung der Immunität.

Von einem ähnlichen Gesichtspunkte ausgehend, theilte bald darauf auch Freudenreich¹⁾ Versuche über den Antagonismus von Bakterien mit.

Freudenreich benutzte zu seinen Versuchen im Gegensatz zu Garré flüssige Nährböden (Rindsbouillon). Er beschickte dieselben mit den betreffenden Bakterien, liess die Kulturen vier bis sechs Wochen wachsen und filtrirte dann die Flüssigkeit durch ein Chamberland'sches Filter und nahm sodann in den Filtrat die Aussaat des zweiten Microorganismus vor.

Die Resultate der sich auf eine grosse Zahl von Bakterienarten beziehenden Arbeit sind von Freudenreich in einer übersichtlichen Tabelle zusammengestellt worden, auf welche ich verweise.

Freudenreich erweitert seine Angaben dann in einer zweiten Arbeit²⁾ durch eine Anzahl weiterer Versuche, deren Resultate er mit denen der ersten zusammen in eine Tabelle vereinigt.

¹⁾ Annales de l'institut Pasteur, 1888, avril.

²⁾ Annales de Micrographie 1889, 1. Heft.

In dieser zweiten Versuchsreihe beschäftigt er sich auch mit der Frage, worauf der Antagonismus der Bakterien beruhe. Wie erwähnt, wurde von Garré die Angabe gemacht, dass es spezifische giftige Stoffwechselprodukte der einen Bakterienart seien, welche hemmend auf die Entwicklung einer anderen Art wirken.

Dem gegenüber war von Syrotinin¹⁾ die Behauptung aufgestellt worden, dass der Antagonismus nur darauf beruhe, dass die erste Kultur in dem Nährmedium freie Säure, oder freies Alkali, oder auch freie Kohlensäure erzeuge, während in anderen Fällen Erschöpfung des Nährbodens an Nährstoffen die Ursache sei. Wurde in den Syrotininschen Versuchen die Reaktion verändert, oder der Defekt an Nährstoffen ersetzt, so ging das Wachsthum der zweiten Kultur ungestört vor sich. Auch Freudenreich theilt in seiner zweiten Arbeit einige Versuche mit, welche zeigen, dass die antagonistische Wirkung des *Bacillus pyocyaneus* in der That nicht auf der spezifischen Giftwirkung der Stoffwechselprodukte dieses *Bacillus*, sondern auf Verarmung des Nährbodens beruht. Gleichzeitig weist Freudenreich auch die Syrotininsche Ansicht zurück, wonach die gesteigerte Alcalescens oder die Säuerung des Nährbodens schuld an der antagonistischen Wirkung sei.

Von späteren Arbeiten, die sich mit dem Antagonismus der Bakterien befassen, sind noch zu nennen diejenigen von Döhle²⁾ und Lewek.³⁾ Aus der Arbeit des letzteren habe ich nur das eine mit meinen eignen in der nachfolgenden Arbeit mitzutheilenden Resultaten in Widerspruch stehende Ergebniss anzuführen, dass der *Bacillus fluorescens liquefaciens* keinen antagonistischen Einfluss auf *staphylococcus pyogenes aureus*, *Bacillus Typhi abdominalis* und *spirillum Cholerae asiaticae*, sondern nur einen solchen auf den *Bacillus anthracis* habe.

¹⁾ Ueber die entwicklungshemmenden Stoffwechselprodukte der Bakterien und die sog. Retentionshypothese. Zeitschrift für Hygiene, Bd. IV, 1888.

²⁾ Beobachtung über einen Antagonisten des Milzbrandbacillus. Habilitationsschrift, Kiel, 1889.

³⁾ Ueber den Wachsthumseinfluss einiger nicht pathogenen Spaltpilze auf pathogene. Ziegler's Beiträge für pathologische Anatomie etc. Bd. VI, 1889, pag. 277.

Die Arbeiten über antagonistische Wirkung pathogener Bakterien *im Innern des lebendigen Organismus* betreffen eine ganz andere, weniger für die Hygiene, als für die sog. Bacteriotherapie in Betracht kommende Gruppe von Thatsachen, die uns an dieser Stelle nicht beschäftigen können.

Eine Zeit lang schienen, wie erwähnt, die Versuche über den Antagonismus der Bakterien auf künstlichen Nährmedien geeignet zu sein, Licht zu verbreiten über das Wesen der erworbenen Immunität des Organismus gegen Infectiouskrankheiten, ja sie schienen auch der sog. Bacteriotherapie der Infectiouskrankheiten gangbare Wege zu weisen. Allein einer nüchternen Anschauung und Kritik konnte es nicht verborgen bleiben, dass diese an sich sehr interessanten Versuche doch für die Verhältnisse des lebendigen Körpers nur sehr wenig erklärten. Denn weder der Ansicht, welche Garrè vertreten hatte, dass es die giftigen Stoffwechselprodukte der Bakterien seien, welche anderen Arten und eventuell auch derselben Art die Vegetation unmöglich machen (Gifttheorie), noch die Ansicht, welche Soyka und für manche Fälle auch Freudenreich vertraten, dass die Erschöpfung des Nährbodens die Ursache der Entwicklungshemmung sei (Erschöpfungstheorie), konnte für die Erklärung der Immunität oder für die Therapie der Infectiouskrankheiten viel lehren, weil der lebendige Körper Gifte sehr rasch ausscheidet und fehlende Substanzen umgekehrt rasch ergänzt.

Trotz der Unfruchtbarkeit der Versuche über Antagonismus der Bakterien für die Lehre von der Immunität haben dieselben aber eine gewisse Bedeutung für die Hygiene. Es ist wohl zweifellos, dass für die allmähliche Unschädlichmachung pathogener Bakterien in der Aussenwelt der Antagonismus der Bakterien eine grosse Rolle spielt. Gerade diese hygienischen Gesichtspunkte veranlasste Herrn Professor Sahli, mir die Aufgabe zu stellen, einen der verbreitetsten Wasserbacillen, den man fast in jedem Wasser in sehr grossen Mengen vorfindet, auf seine antagonistischen Wirkungen gegenüber pathogenen Bakterien, welche etwa durch das Wasser übertragen werden und in demselben gedeihen können, zu prüfen.

Bevor ich zur Mittheilung meiner Resultate übergehe, halte ich es für nothwendig, den *Bacillus fluorescens liquefaciens*, welchen ich aus dem Wasser des Vierwaldstättersee züchtete und in Reinkulturen zu meinen Untersuchungen benutzte, genau zu beschreiben, da ich durch die mangelhafte Uebereinstimmung und bei der ungenügenden Ausführlichkeit der Beschreibungen dieses Bacillus, wie ich sie in der Litteratur vorgefunden habe, den Eindruck erhielt, als ob vielleicht nicht alle Autoren denselben Microorganismus vor sich gehabt hätten.

Beschreibung des untersuchten *Bacillus fluorescens liquefaciens*.

Der *Bacillus fluorescens liquefaciens*, den ich vor mir hatte, stellt kleine Stäbchen von 0,0008 bis 0,0017 mm. Länge und einer Breite von $\frac{1}{3}$ dieser Maasse dar.

Die Bacillen zeigen im hängenden Tropfen fortlaufende Bewegungen, die bei mässigem Erwärmen des Präparates lebhafter werden. Diese Eigenbewegungen sind die bekannten lebhaften, das ganze Gesichtsfeld durchschliessende, welche mit der Brown'schen Molecularbewegung nicht verwechselt werden können.

Fast auf allen Nährlösungen entwickelt sich der *Bacillus fluorescens liquefaciens* sehr gut und wächst bei Zimmertemperatur sehr rasch.

Auf Platten von Fleischpeptongelatine bilden sich schon im Laufe der ersten 24 Stunden kleine gelbliche punktförmige Kolonien, kreisrund, in der Mitte etwas eingezogen, von einem verflüssigten, helleren Stoffe umgeben: nach und nach konfluiren einzelne solcher Kolonien, in ungefähr zwei bis drei Tagen wird die ganze Platte flüssig. Die Ausgangsstelle des Wachsthum's jeder einzelnen Kolonie ist aber noch sichtbar. Die flüssige Gelatine fluorescirt grünlich, nach und nach tritt diese Fluorescenz immer deutlicher hervor.

Im Reagensgläschen verflüssigt der *Bacillus fluorescens liquefaciens* die Gelatine gleichfalls ziemlich schnell. Schon nach 24 Stunden bildet sich an der Oberfläche des Impfstiches

eine Verflüssigungsgrube. Darunter im Stich sieht man weissliche, an geflochtene Zöpfe erinnernde Massen. Indem sich die Gelatine verflüssigt, nimmt sie eine grüne fluorescirende Färbung an. Im durchfallenden Licht ist von der grünen Färbung nichts zu sehen. Es ist also eine reine Fluorescens. Die verflüssigte Gelatine der ganz jungen Kulturen ist in durchfallendem Licht vielmehr hellgelblich und je älter sie werden, um so mehr nimmt sie eine bräunliche Farbe an.

Die grünliche flüssige Partie nimmt allmählig nach der Tiefe zu, die weissen Massen senken sich bis auf die Zone der fest gebliebenen Gelatine, allmählig färbt sich auch diese grünlich, nach und nach wird die ganze Gelatine bis auf den Boden flüssig. Nach längerem Stehen verliert die inzwischen braun gewordene Kultur die grünliche Fluorescenz fast ganz.

Auf Agar-Agar entwickeln sich sehr schnell graugelbliche Kolonien, welche sehr dicht werden können. Um sie herum entwickelt sich wieder die grüne Fluorescenz, welche auch in die Tiefe dringt, bis der ganze Inhalt des Reagensgläschens grün ist. Auch hier verliert mit der Zeit die braun werdende Kultur ihre grünliche Fluorescenz. Die grüne Fluorescenz entwickelt sich auf Agar-Agar rascher als auf Gelatine.

Die grüne Fluorescenz auf Gelatine und Agar ist an dem Gehalt dieser Nährmedien an Fleischinfus gebunden. Auf Agar ohne Fleischinfus wächst der *Bacillus* auch, aber ohne Fluorescenz.

In Bouillonkulturen entsteht zuerst eine leichte Trübung in den oberflächlichen Schichten, erst später bildet sich eine dünne Rahmhaut, welche beim Schütteln sich leicht zu einem Knäuel ballt, aber schwer untersinkt. Die grüngelbe fluorescirende Färbung erscheint 24 Stunden bis 2 Tage nach der Impfung zuerst nur in den oberen Schichten. Nachher fängt die ganze Bouillon an grünlichgelb zu schimmern. In alten Kulturen verändert sich die Färbung allmählig, ähnlich wie auf Agar und Gelatine.

Auch auf Kartoffeln wächst der *Bacillus fluorescens liquefaciens* charakteristisch. Es treten bei Zimmertemperatur schon nach 24 Stunden gelbliche Kolonien auf, um welche herum

die Kartoffel eine graubraune Farbe annimmt. Die Kolonien werden allmählig schmutzig braungelb. Die Emulsion der Kartoffelkulturen in Wasser zeigt keine Fluoreszenz.

In Milch entwickelt sich der *Bacillus fluorescens liquefaciens* ebenfalls sehr gut. Nur muss die Milch durch 1 1/2 Stunde langes Kochen sterilisirt werden; dann wird 24 Stunden nach der Impfung mit *Bacillus fluorescens liquefaciens* eine Coagulation des Caseins bemerkbar, einige Tage später findet eine Verflüssigung (Peptonisirung?) desselben statt. Schon nach 48 Stunden nimmt das Milchserum eine grüne Fluoreszenz an, welche gleichmässig in der ganzen Flüssigkeit vertheilt ist.

Auf keinem der Nährmedien entwickelt der *Bacillus fluorescens liquefaciens* irgend einen Geruch.

Das Temperatur-optimum für das Wachsthum des *Bacillus fluorescens liquefaciens* liegt zwischen 15° und 20° C. Sein Gedeihen wird aufgehoben durch Temperaturen über 28° oder unter + 3° C. Schon bei 22° C. hört seine Farbenproduktion auf. Er wächst noch bei dieser Temperatur, aber seine Kulturen werden nicht mehr grün. Kommen diese bei 22° C. gewachsene Kulturen, sowie auch die mit *Bacillus fluorescens liquefaciens* geimpften Reagensgläschen, welche ungefähr 10 Tage bei einer Temperatur von + 3° C. gehalten wurden und kein Wachsthum zeigten bei Zimmertemperatur, so beginnt ein üppiges Wachsthum mit einer normalen Farbenproduktion; Reagensgläschen mit *Bacillus fluorescens liquefaciens* geimpft, welche zwei bis drei Tage bei einer Temperatur von 28° C. gehalten wurden, wuchsen nachher auch bei Zimmertemperatur nicht aus und scheinen abgestorben zu sein.

Durch Sauerstoffmangel wird die Farbenproduktion auch aufgehoben, bei gänzlicher Abwesenheit von Sauerstoff bleibt der *Bacillus fluorescens liquefaciens* in seinem Wachsthum ganz stehen. Er ist also aerob.

Die Fluoreszenz der Kulturen verschwindet durch Essigsäurezusatz, tritt durch Ammoniakzusatz wieder hervor.

Der fluorescirende Farbstoff ebenso wie der braune ist nicht extrahirbar durch Aether, Chloroform oder Amylalkohol.

Um über die chemische Natur des fluorescirenden Farbstoffes Aufschluss zu erhalten, wurde mit den fluorescirenden Nährmedien die Ehrlich'sche Diazoreaktion angestellt. Dieselbe fiel negativ aus.

In einem mit Wasser gefüllten Gefäß mit dunklen Wandungen in auffallendem Sonnenlicht betrachtet, zeigen besonders ältere fluorescirende Kulturen häufig aber nicht konstant, ein Farbenspiel, in dem sie nicht grün, sondern schön blau zu sein scheinen.

Im Spectroscop absorbiren alte braune nicht mehr fluorescirende Kulturen alle Farben des Spectrums vom violetten Ende bis zum grün; bei noch älteren Kulturen wird noch ein Theil von grün und gelb absorbirt, so dass fast nur die rothe Farbe zu sehen ist, bei jungen Kulturen, die noch grünfluoresciren, wird das ganze Spectrum etwas verdunkelt. Irgendwelche Absortionsstreifen sind weder bei den jungen, noch bei den alten Kulturen zu beobachten.

Im polarisirten Licht ist nichts Besonderes zu beobachten.

Beim Verdünnen der Kulturen mit Wasser tritt die grüne Fluorescenz noch deutlicher hervor. Bei den alten, bräunlichen Kulturen, die schon gar nicht mehr fluoresciren, erscheint beim Verdünnen die Fluorescenz nicht wieder.

Zur Prüfung des Wachstums des *Bacillus fluorescens liquefaciens* auf gefärbten Nährmedien befolgte ich die Vorschrift von Nöggerath.¹⁾ Es wurden wässrige, gesättigte Lösungen von Methylenblau, Gentianaviolett, Methylgrün, Chrysoidin und Fuchsin hergestellt und davon 2 beziehungsweise 4, 1, 4 und 3 Ccm. gemischt und die Mischung mit 200 Ccm. Wasser verdünnt. Von dieser Lösung wurden je 7 bis 10 Tropfen zu etwa 10 Ccm. Fleischpeptongelatine zugesetzt und nachher diese Mischung sterilisirt. Auf dem so zubereiteten Nährsubstrat ist das Wachstum des *Bacillus fluorescens liquefaciens* etwas verzögert. Nach und nach wird aber die Gelatine doch verflüssigt und dabei entfärbt. Es entsteht ein dicker, dunkel-

¹⁾ Zeitschrift für wissenschaftliche Microscopie und microscopische Technik. 1888, pag. 244. Ueber eine neue Methode der Bacterienzüchtung auf gefärbten Nährmedien zu diagnostischen Zwecken.

violetter Niederschlag; die oberflächlichen Schichten der verflüssigten Gelatine sind aber etwas grünlich fluorescirend.

Ich prüfte auch das Wachsthum des *Bacillus fluorescens liquefaciens* auf Lackmusgelatine nach Kahen.¹⁾ Dieselbe wird in der Weise hergestellt, dass man gewöhnlicher alkalischer Nährgelatine konzentrirte wässerige neutrale Lackmuslösung bis zu intensiv blauröthlicher Färbung zusetzt und die Mischung nach Abfüllung in Reagensgläschen sterilisirt.

Auf solcher Lackmusgelatine wächst der *Bacillus fluorescens liquefaciens* ziemlich gut, aber etwas weniger schnell wie auf reiner Fleischpeptongelatine, die Farbe wird dabei aus einer rothblauen mehr blau.

Der Grad der Alkaleszenz der Kulturen wurde durch Titration geprüft und mit dem Alkaleszenzgrade der reinen Bouillon, welche zu den Kulturen verwendet wurde, verglichen. Es ergab sich dabei, dass die Alkaleszenz des Nährmediums nicht wesentlich verändert wird.

Dem Kaninchen in Dosen verschiedener Grösse (5,0; 16,0 und 25,0 cub. cm.) subcutan, oder in der Menge von 125 Ccm. der Bouillonkultur per Schlundsonde in den Magen eingebracht, macht der *Bacillus fluorescens liquefaciens* gar keine Erscheinungen: weder allgemeine noch lokale; der Harn solcher Kaninchen wurde 24 Stunden nach der Injektion auf einen allfälligen Gehalt an *Bacillus fluorescens liquefaciens* untersucht. Es ergaben sich aber bei dieser Untersuchung negative Resultate.

Ich glaube durch diese Angaben die Speziesmerkmale des *Bacillus*, mit welchem ich arbeitete, genügend charakterisirt zu haben und zum zweiten Theil meiner Arbeit — zur Mittheilung meiner Resultate über seine antagonistische Eigenschaften übergehen zu können.

Zuerst will ich aber den von mir der Spezies *Bacillus fluorescens liquefaciens* zugeschriebenen Merkmalen die Beschreibungen in Tabellenform gegenüberstellen, welche in der

¹⁾ Zeitschrift für wissenschaftliche Microscopie und microscopische Technik. 1888, pag. 99. „Ueber das Reduktionsvermögen der Bacterien“.

Litteratur für den *Bacillus fluorescens liquefaciens* und für solche Arten, welche ihm nahe stehen und mit ihm verwechselt werden können, gegeben wurden. Es kommen dabei in Betracht der *Bacillus fluorescens liquefaciens* von A. Frick,¹⁾ der *Bacillus fluorescens liquefaciens* (grüngelber *Bacillus*) von Eisenberg,²⁾ der *Bacillus fluorescens liquefaciens* von E. Macè³⁾ und der *Bacillus aquatilis viridis* von A. v. Cornil und V. Babes.⁴⁾

Wie man aus folgender Tabelle sehen kann, stimmt keine der Beschreibungen mit der andern, sowie auch mit der meinen vollständig überein. So findet z. B. A. Frick auf der Gelatineplatte unregelmässig begrenzte Kolonien, welche ziemlich lange Ausläufer bilden, während ich fand, dass mein *Bacillus fluorescens liquefaciens* sich immer in ganz regelmässigen kreisrunden Kolonien entwickelte und keine Ausläufer sehen liess. Darin stimmen mit mir überein auch die Angaben von Eisenberg, Macè und v. Cornil und Babes.

Bei der Beschreibung der Kartoffelkulturen differiren meine Angaben und in Uebereinstimmung mit diesen die von Eisenberg und von Cornil und Babes, von denen, die Frick gegeben hat.

Auch bei den Milchkulturen differiren die Angaben von Frick von meinen Beobachtungen; es soll nach Frick die Grünfärbung der Milch in einzelnen Flecken an der Oberfläche der Kulturen auftreten. In meinen Milchkulturen vertheilte sich die Grünfärbung ebenso gleichmässig wie in den Gelatinekulturen.

Im Uebrigen ist die Beschreibung von Frick der meinen ganz ähnlich.

Nach Eisenberg färbt sich die zunächst noch festbleibende Gelatine grünlich, während bei meinen Versuchen die *Fluorescens* stets erst in der schon verflüssigten Partie auftrat.

¹⁾ Virchow's Archiv Bd. 116, Heft 2, pag. 272. «Mittheilung über das grüne Sputum und über die grünen Farbstoff produzierenden Bacillen».

²⁾ Bacteriologische Diagnostik. 1891, Tabelle Nr. 56.

³⁾ Traité pratique de Bacteriologie par E. Macè. Tableau resumant pag. 594.

⁴⁾ Les Bacteries et leur rôle dans l'étiologie, l'anatomie et l'histologie des maladies infectieuses par A. v. Cornil et V. Babes. 1890, pag. 174

Die Verflüssigung und fluorescirende Verfärbung gingen Hand in Hand.

Macé sah die Bouillonkulturen sich schnell trüben, beobachtete aber nicht wie ich und Frick eine Kahmhaut auf der Oberfläche der Kultur. (Vergl. im Uebrigen die Tabelle).

Die antagonistischen Eigenschaften meines *Bacillus fluorescens liquefaciens*.

Zur Prüfung des Antagonismus des *Bacillus fluorescens liquefaciens* gegenüber anderen Bacterienarten wurden die Versuche in folgender Weise angestellt:

I. Es wurden die beiden Bacterienarten auf Agarplatten abwechselnd in parallelen Strichen geimpft und zwar so, dass die Distanz der ersten Impfstriche nur 5 mm beträgt, während bei den folgenden die Distanz allmählig wächst, bis endlich der letzte Impfstrich der zu prüfenden Bacterienart auf einer Seite sich 15 mm entfernt vom letzten Impfstriche des *Bacillus fluorescens liquefaciens* befindet, auf der anderen Seite vom letzteren ganz frei ist (Methode von Garré).

II. Die erste Methode wird in der Weise modifizirt, dass die Impfstriche einander rechtwinklig schneidend angelegt werden.

III. Die dritte Methode besteht endlich darin, dass nach einem ungefähr drei Wochen dauernden Wachsthum des *Bacillus fluorescens liquefaciens* auf Agar-Agar die Kultur mit einer sterilisirten Spatel vorsichtig herausgestochen wurde. Der Rest des grünen klaren Agars ist jetzt von Microorganismen frei, wurde aber der sicheren Sterilisation halber noch mehrmals aufgeköcht. Auf dem so zubereiteten Nährboden wird die zu prüfende Bacterienart geimpft. Ein ähnlich behandeltes Gläschen, auf welchem kein *Bacillus fluorescens liquefaciens* gewachsen war, diente zur Kontrolle bei der Beurtheilung der antagonistischen Wirkung des fluorescirenden Nährbodens.

Diese drei Methoden wurden angewendet zur Prüfung des Antagonismus des *Bacillus fluorescens liquefaciens* gegenüber dem *Bacillus fluorescens non liquefaciens* s. *Putidus*, dem Ba-

	Virchows Archiv Bd. 116, A. Frick. <i>Bacillus fluorescens liquefaciens.</i>	Bacteriologische Tabellen von Eisenberg Nr. 56. <i>Bacillus fluor. liquefaciens (grüngelber Bacillus).</i>	E. Mace. <i>Bacillus fluorescens liquefaciens.</i>	A. v. Cornil und V. Babes. <i>Bacillus aquatilis viridis.</i>
Fundort.	—	Wasser.	Wasser und Luft.	Wasser.
Form, Anordnung.	Kleine, feine Stäbchen, keine Fäden bildend, meist nur 2 bis 3. Wahrscheinlich Geisseln.	Kleine feine Stäbchen.	Kurze Stäbchen mit abgerundeten Enden 1,5 μ lang, 0,4 μ breit, einzeln oder zu zwei vereinigt, in Kulturen bis 3,2 μ .	Stäbchen von 0,3—0,4 μ breit, etwas länger als die der Cholera.
Beweglichkeit.	Lebhaft. Beweglich.	Sehr beweglich.	Beweglich.	—
Wachsthum auf Gelatineplatte.	Die Kolonien zuerst scharf aber unregelmässig begrenzt, ziemlich lange Ausläufer bildend, vollkommen flach. Später bildet sich langsam eine kreisrunde Verflüssigungsgrube. Die Kolonie sinkt in der Mitte dieses zusammen und bildet dort ein unregelmässiges, dunkel gefärbtes Häufchen. Die Umgebung grün gefärbt.	Runde Kolonien, trichterförmig eingesunken in der Mitte, weiss. Die feste Gelatine in der Umgebung nimmt oft 4—5 cm weit eine schöne diffuse, grünlichgelb fluorescirende Färbung an.	Gräuliche, schnell verflüssigende Kolonien von runder Form, in der Mitte der Kolonie, welche in 4 Tagen 4—5 mm in Diameter hat, sieht man weisse Häufchen. Die Gelatine färbt sich grün.	Runde verflüssigende Kolonien, die in 24—48 Stunden ein Diameter von 1 cm erreichen können. Die verflüssigte Partie färbt sich grün.
Im Gelatinestich.	Bildet erst eine runde Verflüssigungsgrube, darunter im Stich weissliche, an geflochtene Zöpfe erinnernde Massen. Später wird die verflüssigte Partie tiefer, spitzer, trichterförmig und schliesslich Auftreten der gelbgrünen, unveränderlichen Färbung.	Wächst langsam längs des Impfstiches, kaum sichtbar, an der Oberfläche schneller, luftblasenartige Vertiefung bildend. Am Grunde derselben weissliche Kolonien. Die fest gebliebene Gelatine um den Impfstich herum nimmt nach einiger Zeit diffuse, grünlichgelb fluorescirende Färbung an.	Wächst längs des Impfstiches langsam, schneller an der Oberfläche. Am Grunde der Vertiefung weissliche Flocken. Nach und nach nimmt in der Tiefe die Verflüssigung zu. Die verflüssigte Partie grün gefärbt.	Verflüssigende Kolonien, die sich sehr rasch entwickeln.
Agarstich.	Belag etwas flacher, grün etwas trockener.	—	Graugelbliche Kolonien, die sehr dicht werden können. In der Oberfläche färben sie sich grün.	—
Bouillonkulturen.	Auf Bouillon entsteht eine dünne, spinnwebartige Kahmhaut, die beim Schütteln sich sehr leicht in einen Knäuel ballt, aber schwer untersinkt; die oberen Schichten der Bouillon werden grün gefärbt.	—	Nach 12 Stunden Trübung, nach und nach ein ziemlich dichter Niedersatz. Keine Kahmbildung. Grün-gelbe fluorescirende Färbung, welche nach längerer Zeit abnimmt, sowie auch die Färbung; dabei tritt ein fakulenter Geruch hervor.	—
Kartoffelkulturen.	Nussfarbene, apfelgeléeartige, etwas feuchte Auflagerungen, im Brutschrank nicht verändert.	Wächst mit schmutziggelber Farbe an der Impfstelle. Die Umgebung färbt sich leicht bräunlich.	Schmutziggelbe, glänzende Kolonien.	Schmutzige, gelbe Kolonien, um welche herum die Kartoffel eine braune Farbe annimmt.
Milchkulturen.	Rasche Coagulation des Caseins, dann energische Peptonisirung desselben; Milchsäuregährung nicht nachgewiesen. Grünfärbung der Milch in einzelnen Flecken, an der Oberfläche vorkommend.	—	—	—
Temperaturverhältnisse.	Gedeiht gut bei Zimmer-, schlecht bei höheren Temperaturen.	Gedeiht nicht bei höheren Temperaturen.	—	—
Schnelligkeit d. Wachstums.	—	Wächst schnell.	—	—
Sporenbildung.	Nicht beobachtet.	—	—	—
Luftbedürfniss.	Streng aerobe.	Aerobe.	Aerobe.	—
Verhalten zur Gelatine.	Die Gelatine wird nach und nach verflüssigt.	Verflüssigt.	Verflüssigt.	Verflüssigt.
Farbenproduktion.	Produziert geldgrünen Farbstoff, der unverändert bleibt bei Einwirkung von Sauerstoff; durch Säuren entfärbt, durch Alkalien wieder grün.	Bildet grünlichgelb fluorescirenden Farbstoff.	Bildet grünlichgelben fluorescirenden Farbstoff. Nach Filtration und Sterilisation wird die Farbe noch intensiver. Durch Säuren entfärbt, durch Ammoniak wieder grün.	Grüngelbe, fluorescirende Farbe bildend.

cillus Prodigiosus, dem Bacillus des grünen Eiters, dem Staphylococcus pyogenus aureus, dem Milzbrandbacillus, dem Cholera-bacillus und dem Typhusbacillus. Der Tuberkelbacillus, sowie der Fränkel'sche Pneumoniococcus konnten, weil beide bei niedriger Temperatur, wie sie für den Bacillus fluorescens liquefaciens erforderlich ist, sich nicht entwickeln, nur nach der dritten Methode geprüft werden.

Dabei ergaben sich folgende Resultate:

1. *Bacillus fluorescens putidus*. Der Bacillus fluorescens putidus wächst neben dem Bacillus fluorescens liquefaciens ganz gut, es scheint demgemäss zwischen ihnen kein Antagonismus zu bestehen.

2. *Bacillus prodigiosus*. Der Bacillus prodigiosus wächst neben dem Bacillus fluorescens liquefaciens bei Anwendung der beiden ersten Methoden sehr gut, ohne eine Spur von Hemmung, bei Anwendung der dritten Methode tritt aber der Antagonismus der beiden genannten Arten klar hervor — auf grünem sterilen Agar wächst der Prodigiosus gar nicht. Es ist dies wahrscheinlich dadurch zu erklären, dass der Bacillus prodigiosus sich ebenso schnell entwickelt, wie der Bacillus fluorescens liquefaciens und der letztere desswegen keine Zeit hat, seinen Antagonismus zu entfalten, was nur dann stattfinden könnte, wenn der Bacillus fluorescens liquefaciens sich rascher entwickeln und seine Ausscheidungsprodukte in die Umgebung diffundiren würden noch ehe der Prodigiosus sich entwickelt hat. Bei der dritten Methode dagegen, wo der Prodigiosus auf einen Nährboden geimpft wird, welcher durch die Ausscheidungsprodukte des Bacillus fluorescens liquefaciens schon intensiv chemisch verändert ist, kann er sich nicht mehr entwickeln.

3. *Staphylococcus pyogenes aureus*. Nach der ersten Methode geimpft, zeigten die Platten am zweiten Tage Folgendes: alle Striche des Bacillus fluorescens liquefaciens gewachsen und die Agar um sie herum grün fluorescirend. Der Staphylococcus pyogenes aureus hat sich nur an dem äussersten Impfstriche entwickelt. Am dritten Tage ist die ganze Platte grün. Von den Staphylococcus-Impfstrichen sind nur die zwei äussersten

zu sehen, davon der vorletzte nur sehr kümmerlich entwickelt, der äusserste Impfstrich zeigt ein ziemlich gutes Wachsthum. Die übrigen Striche des *Staphylococcus* entwickeln sich auch in den folgenden Tagen nicht.

Nach der zweiten Methode (Kreuzstriche) geprüft, zeigte der *Staphylococcus* folgendes Verhalten: schon am zweiten Tage war der Impfstrich von *Bacillus fluorescens liquefaciens* entwickelt und in der nächsten Entfernung war die Agar schon grünlich. Vom *Staphylococcus* war noch gar nichts zu sehen. Am dritten Tage waren an den Enden des Impfstriches der *Staphylococcus* etwas entwickelt, an dem Kreuzungspunkte der zwei Impfstriche zeigte der *Staphylococcus* absolut kein Wachsthum. Auch in den folgenden Tagen entwickelte sich der *Staphylococcus* nahe dem Kreuzungspunkte gar nicht.

Nach der dritten Methode geimpft, zeigte der *Staphylococcus* gar kein Wachsthum.

Ich prüfte den Antagonismus des *Bacillus fluorescens liquefaciens* zum *Staphylococcus pyogenes aureus* noch, indem ich die dritte Methode in folgender Weise modifizirte: ich filtrirte eine vier Wochen alte Bouillonkultur von *Bacillus fluorescens liquefaciens*, setzte frische alkalische Agarlösung zu, sterilisirte diese Mischung und impfte auf dem so zubereiteten Nährboden den *Staphylococcus pyogenes aureus*. Auch nach längerem Stehen konnte ich keine Spur von Entwicklung des *Staphylococcus* beobachten.

Der *Bacillus fluorescens liquefaciens* zeigte also bei Anwendung aller dieser Methoden einen ausgesprochenen Antagonismus zum *Staphylococcus pyogenes aureus*.

4. *Milzbrandbacillus*. Nach der ersten Methode geimpft, zeigten die Platten Folgendes: am zweiten Tage sind nur die Impfstriche des *Bacillus fluorescens liquefaciens* gewachsen und neben denselben ist die Agar grün gefärbt. An den Impfstrichen des *Milzbrandbacillus* ist noch nichts zu sehen. Am dritten Tage waren die zwei äussersten Impfstriche des *Milzbrandbacillus* etwas entwickelt. Am fünften Tage war der äusserste Impfstrich des *Milzbrandbacillus* ziemlich gut entwickelt, der letzte Impfstrich nur kümmerlich. Die übrigen

Impfstriche zeigten kein Wachstum des Milzbrandbacillus; die ganze Platte war grün.

Nach der zweiten Methode geprüft, zeigte der Milzbrandbacillus folgendes Verhalten: schon am zweiten Tage war der Impfstrich des *Bacillus fluorescens liquefaciens* entwickelt und in der nächsten Umgebung desselben die Agar grünlich fluorescirend. Die Milzbrandbacillen zeigten noch kein Wachstum. Am vierten Tage war die ganze Platte grün und an beiden Enden des Milzbrandbacillus-Impfstriches hatte das Wachstum begonnen. Am Kreuzungspunkte der zwei Impfstriche entwickelte sich der Milzbrandbacillus auch in den folgenden Tagen gar nicht.

Nach der dritten Methode geprüft, zeigte der Milzbrandbacillus gar kein Wachstum.

Bei der oben erwähnten Modifikation der dritten Methode (Filtration, Sterilisation und Zusatz von frischer Agarlösung) entwickelte sich der Milzbrandbacillus nur ganz kümmerlich.

5. *Typhusbacillus*. Nach der ersten Methode geprüft, zeigten die Platten am zweiten Tage Folgendes: die Impfstriche des *Bacillus fluorescens liquefaciens* nur wenig gewachsen und die grüne Fluorescenz noch gar nicht zu sehen. Auch der *Typhusbacillus* zeigt noch gar kein Wachstum. Am dritten Tage war die Agar um die *Bacillus fluorescens liquefaciens*-striche herum grünlich. Der äusserste Impfstrich des *Typhusbacillus* war gewachsen. Am vierten Tage war die ganze Platte grün, von den Impfstrichen des *Typhusbacillus* haben sich die zwei äusseren entwickelt und von diesen der äussere gut und der innere nur kümmerlich. Die übrigen Impfstriche des *Typhusbacillus* entwickelten sich auch in den folgenden Tagen gar nicht.

Bei der Prüfung nach der zweiten Methode war am zweiten Tage Folgendes zu sehen: der *Bacillus fluorescens liquefaciens* war längs des ganzen Striches entwickelt, die grüne Fluorescenz noch nicht deutlich, der Impfstrich des *Typhusbacillus* zeigt noch kein Wachstum. Am dritten Tage hat sich der *Typhusbacillus* an beiden Enden des Impfstriches entwickelt, aber nur sehr kümmerlich. Am sechsten Tage hat sich der *Typhus-*

bacillus an den Enden des Impfstiches gut entwickelt. Das Wachstum nimmt aber gegen die Mitte des Impfstiches ab und in der Umgebung des Kreuzpunktes kommt es gar nicht zur Entwicklung.

Nach der dritten Methode geprüft, zeigt der Typhusbacillus gar kein Wachstum.

Der *Bacillus fluorescens liquefaciens* ist also ein ausgesprochener Antagonist des Typhusbacillus.

6. *Cholerabacillus*. Nach der ersten Methode geimpft, waren am zweiten Tage alle Striche des *Bacillus fluorescens liquefaciens* etwas gewachsen. An den Strichen zeigte die Agar grüne Fluoreszenz, vom *Cholerabacillus* war noch nichts zu sehen. Am dritten Tage war die ganze Platte grün, von den Impfstichen des *Cholerabacillus* waren die zwei äussersten etwas gewachsen, am vierten Tage waren drei Impfstiche des *Cholerabacillus* entwickelt, der innerste freilich recht kümmerlich; die übrigen Impfstiche entwickelten sich auch in den folgenden Tagen nicht.

Bei der Prüfung nach der zweiten Methode sieht man bis zum dritten Tage auf dem Impfstich des *Cholerabacillus* nichts. Der Impfstich des *Bacillus fluorescens liquefaciens* ist gut gewachsen und dessen nächste Umgebung grün fluorescierend. Vom dritten Tage an fängt der *Cholerabacillus* an, sich zu entwickeln und zwar ungefähr bis zur Mitte jedes Schenkels seines Impfstiches. Am fünften Tage ist er in den äussersten Partien des Impfstiches merklich gewachsen. Gegen die Mitte hin ist das Wachstum nur kümmerlich. Die ganze Platte ist grün.

Nach der dritten Methode zeigte der *Cholerabacillus* ein Wachstum, dieses war aber im Vergleich zu demjenigen im Kontrollglase stark gehemmt.

Bei der Modifikation der dritten Methode (unter Zusatz von neuer Agar) war die Entwicklung des *Cholerabacillus* in demselben Grade gehemmt.

7. *Bacillus des grünen Eiters*. Nach der ersten Methode geimpft, waren am zweiten Tage alle Striche des *Bacillus fluorescens liquefaciens* gewachsen, neben den Strichen die

Agar grün gefärbt. In den zwei äussersten Strichen war der Bacillus des grünen Eiters etwas gewachsen, am dritten Tage war die ganze Platte grün. Vom Bacillus des grünen Eiters waren vier Striche entwickelt, davon die zwei inneren nur ganz kümmerlich, nur der alleräusserste Impfstrich hat sich bedeutend entwickelt. An den folgenden Tagen war das Verhalten das nämliche.

Nach der zweiten Methode geimpft, entwickelte sich der Bacillus des grünen Eiters ungefähr von der Mitte jedes Schenkels des Impfstriches vom zweiten Tage an. Am vierten Tage war die ganze Platte grün. Der Bacillus des grünen Eiters an beiden Enden seines Striches gut entwickelt, am Kreuzungspunkte gar kein Wachsthum, in einiger Entfernung davon die Entwicklung ganz kümmerlich.

Nach der dritten Methode geprüft, zeigte der Bacillus des grünen Eiters ein Wachsthum, das aber im Vergleich zu demjenigen im Kontrollglase stark zurück blieb.

Bei der Modifikation der dritten Methode (Agarzusatz) war die Entwicklung des Bacillus des grünen Eiters ebenfalls gehemmt.

8. *Tuberkelbacillus*. Der Tuberkelbacillus konnte, wie schon früher gesagt, in Rücksicht auf seinen Antagonismus zum Bacillus fluorescens liquefaciens nur nach der dritten Methode geprüft werden. Er entwickelte sich dabei auf grünem, durch die Ausscheidungsprodukte des Bacillus fluorescens liquefaciens chemisch veränderten Nährsubstrat ebenso gut, wie auf ganz reinem Glycerinagar.

9. *Fraenkel'sche Pneumonicoccus*. Der Fraenkel'sche Pneumonicoccus, der auch nur nach der dritten Methode geprüft werden konnte, zeigte dabei gar keinen Antagonismus zum Bacillus fluorescens liquefaciens. Er entwickelte sich auf grünem Agar ganz gut.

Die Ergebnisse meiner Versuche sind also kurz gefasst folgende:

Der Bacillus fluorescens liquefaciens zeigt gar keinen Antagonismus gegen den Bacillus fluorescens putidus, den Tuberkelbacillus und den Fränkel'schen Pneumonicoccus.

Das Wachsthum des *Prodigiosus* wird nur bei der dritten Methode deutlich gehemmt; dagegen erweist sich der *Bacillus fluorescens liquefaciens* als ausgesprochener Antagonist des *Staphylococcus pyogenes aureus*, des Milzbrandbacillus, des *Typhusbacillus*, des *Choleraebacillus* und des *Bacillus* des grünen Eiters; am wenigsten intensiv ist der Antagonismus gegen die letzten zwei Arten.

Im Widerspruch mit den Resultaten meiner Untersuchungen stehen einige Resultate der Lewek'schen Arbeit.¹⁾ Th. Lewek hat nämlich unter anderen Bacterienarten auch einen *Bacillus*, den er *Bacillus fluorescens liquefaciens* nennt, auf seinen Antagonismus zum Milzbrandbacillus, *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Bacillus Typhi abdominalis* und *Bacillus Cholerae asiaticae* untersucht. Die Resultate seiner Versuche fasst er so zusammen: «Bei *Bacillus fluorescens liquefaciens* hat sich ein Einfluss nur auf die Entwicklung des *Bacillus Anthracis* gezeigt, während ein solcher auf *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Bacillus Typhi abdominalis* und *spirillum Cholerae asiaticae* nicht zu bemerken war».

Wie aus dem Vorhergehenden zu sehen ist, stimmen meine Resultate hiermit nur in dem überein, was den Milzbrandbacillus betrifft, bei den übrigen drei Arten, die Lewek noch untersucht hat, differiren unsere Angaben. Ich kann mir dies nur dadurch erklären, dass wir unter demselben Namen *Bacillus fluorescens liquefaciens* zwei verschiedene Bacterienarten untersucht haben.

Anlass zu dieser Vermuthung gibt mir die Bemerkung von Lewek, dass bei der Entwicklung des *Bacillus fluorescens liquefaciens* auf Agarplatten das Agar in der Umgebung der Kolonie nur sehr langsam verfärbt wird und dass sich die Fluorescenz auch bei längerem Versuchen niemals der ganzen Platte mitgetheilt habe; bei meinen Untersuchungen färbte sich immer die ganze Agarmenge gleichmässig grün. Eine eingehendere Beschreibung des von Lewek untersuchten Ba-

¹⁾ Ziegler's Beiträge zur pathologischen Anatomie 1889, Bd. VI, pag. 227.
«Ueber den Wachsthumseinfluss einiger nicht pathogenen Spaltpilze auf pathogene».

cillus, welchen er als *Bacillus fluorescens liquefaciens* bezeichnet, gibt dieser Autor nicht und wie ich schon oben angedeutet habe, sind die Beschreibungen des fluorescirenden verflüssigenden Wasserbacillus, welche mehrere oben aufgeführte Autoren geben, so verschieden, dass es wahrscheinlich erscheint, dass sie verschiedene Bacterienspezies unter dem Namen *Bacillus fluorescens liquefaciens* beschrieben haben.

Die grüne *Fluorescens* scheint einer ganzen Anzahl von Bacterien zuzukommen; denkbar wäre es aber auch, dass es sich bloss um Varietäten einer Spezies handelt, welche von der Beschaffenheit des Wassers, dem die Kulturen entnommen wurden, abhängen.

Wie schon erwähnt, stammen die sämmtlichen von mir verwertheten Kulturen aus einer aus dem Wasser des Vierwaldstättersees gezüchteten Mutterkultur ab.

Ursachen des Antagonismus.

Mit der Frage, welches die Ursache des Antagonismus der Bacterien sei, habe ich mich nur in zweiter Linie befasst.

Einzelne Ergebnisse meiner Versuche veranlassen mich, den Antagonismus des *Bacillus fluorescens liquefaciens* eher nach der « Gifttheorie » von Garré zu erklären, da die beiden anderen Theorien, die Erschöpfungstheorie von Soyka und Freudenreich und Alkalisirungs- oder Säuerungstheorie von Syrotinin mit diesen meinen Ergebnissen im Widerspruch stehen.

Wie ich durch Titration nachgewiesen habe, entstehen nämlich in der Kultur des *Bacillus fluorescens liquefaciens* weder freie Säuren noch nachweisbare Mengen von freiem Alkali. Gegen die Erschöpfungstheorie aber sprechen die Resultate, welche ich bekommen habe bei der Prüfung des Antagonismus durch die Modifikation der dritten Methode, wobei ich der grünen Bouillon frische Agar zugesetzt habe. Dabei äusserte sich der Antagonismus der geprüften Bacterienarten fast in demselben Grade, wie ohne Zusatz von frischem Nährmaterial. Der *Staphylococcus pyogenes aureus* z. B. entwickelte sich auch

bei jener Modifikation der dritten Methode gar nicht, obwohl es ihm hier an Nährmaterial nicht fehlen konnte. Für einige der untersuchten Bakterienarten habe ich allerdings die erwähnte Modifikation der dritten Methode nicht angewendet. Ich betone das, weil es ja recht gut denkbar, sogar sehr wahrscheinlich ist, dass der Antagonismus nicht in allen Fällen gleich zu erklären ist.

Ueber die Natur des Giftes, welches die Entwicklung anderer Bacterienspezies hemmt, kann ich nur das eine sagen, dass dasselbe nicht oder wenigstens nicht immer an den grünfluorescirenden Farbstoff gebunden ist, indem einerseits die Hemmung sehr bemerkbar wurde, bevor die grüne Färbung sichtbar wurde, andererseits mehrmals in den Versuchsprotokollen erwähnt ist, dass bei der ersten Methode die entfernten Impfstiche trotz der grünen Verfärbung des ganzen Agar noch wuchsen.

Hat der Antagonismus der Bakterien eine hygienische Bedeutung?

Dass der Antagonismus der Bakterien unter gewissen Verhältnissen, nämlich da, wo dieselben in grossen Mengen mit einander in Konkurrenz treten, eine hygienische Bedeutung hat, insofern es sich um pathogene Bakterien handelt, dies dürfte von vorneherein kaum zweifelhaft erscheinen und die Nutzenanwendung, welche man von dieser Annahme für Cholera-, Typhus- und Tuberkelbacillen, da wo sie, wie in Abtrittgruben, mit überwältigenden Mengen von Fäulnisbakterien zusammen kommen, gemacht hat, sind bekannt und wohl unbestritten.

Ich habe aber die antagonistische Wirkung des *Bacillus fluorescens liquefaciens* hauptsächlich desshalb studirt, weil derselbe einer der häufigsten und dabei ein in seinem Speziescharakter leicht fassbarer Wasserbacillus ist und weil die Frage nahe liegt, ob derartige nicht pathogene ubiquistische Wasserbakterien auch im Wasser ihren Antagonismus gegen gewisse pathogene Bakterien in einer für den Menschen nützlichen Weise geltend machen, ob sie vielleicht die wichtige

Eigenschaft haben, das Trinkwasser von schädlichen Organismen zu reinigen.

Es ist klar, dass diese Frage für den *Bacillus fluorescens liquefaciens* durch den von mir gelieferten Nachweis seiner auf künstlichen Nährmedien sehr ausgesprochenen antagonistischen Wirkung nicht ohne weiteres entschieden ist.

Zunächst ist daran zu erinnern, dass das, was wir als Antagonismus zu bezeichnen pflegen, ja nur Entwicklungshemmung, nicht aber Desinfektion, Abtötung bedeutet. In wie fern der Antagonismus von Bakterien so weit geht, dass es gerade zu einer Abtötung der einen Spezies durch die andere kommt, dies ist meines Wissens noch gar nicht exakt geprüft worden.¹⁾

Allein mit Rücksicht auf die Trinkwasserinfektion ist zu berücksichtigen, dass auch schon ein bloss die Entwicklung, respektive Vermehrung pathogener Arten hemmender Antagonismus hygienisch wichtig sein kann. Ist es doch von einer Anzahl pathogener Bakterienspezies (Typhus-, Cholera und Milzbrandbacillen²⁾) nachgewiesen, dass sie sich wirklich in Wasser vermehren können, wodurch natürlich die Gefahr der Trinkwasserinfektion wesentlich gesteigert wird.

Es fragt sich nun: Lässt sich aus meinen Versuchen, z. B. im Betreff der Typhus- und Cholerabacillen, der Schluss ziehen, dass auch der gewöhnliche Gehalt des Wassers an *Bacillus fluorescens liquefaciens* im Stande ist, eine merkliche antagonistische Wirkung gegen die Vermehrung pathogener Organismen zu erzielen. Ich wage es nicht, diese Frage ohne weiteres zu bejahen, andererseits glaube ich, lässt sie sich auch nicht kurzweg desswegen verneinen, weil gegenüber den Verhältnissen unserer Kulturen im Wasser bei dem relativ unbedeutenden Gehalt desselben an Organismen die Bedingungen für einen wirklichen Antagonismus möglichst ungünstige seien.

Denn es fällt hier sehr in die Waagschale, dass die pathogenen Arten doch nicht eigentlich Wasserbakterien sind und deshalb in Wasser ohnehin ein verhältnissmässig dürftiges

¹⁾ Ich sehe hier ab von den bekannten Versuchen über das Absterben von Cholera-, Typhus- und Tuberkelbacillen in Fäulnisgemischen.

²⁾ Wolffhügel und Riedel: «Die Vermehrung der Bakterien in Wasser». Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte zu Berlin, Bd. 1, pag. 455.

Dasein führen, während die Wasserbakterien offenbar gerade hier «in ihrem Elemente» sind und deshalb im Kampfe einen Vorsprung gewinnen. In diesem Sinne lässt sich übrigens auch die Erfahrung von Wolffhügel und Riedel (l. c.) verwerthen, dass die von ihnen untersuchten pathogenen Bakterien in sterilisirtem Wasser besser gedeihen, als in nicht sterilisirtem¹⁾. Ausserdem ist aber zu berücksichtigen, dass, wenn auch vielleicht ein *sehr wirksamer* Antagonismus in der Hauptmasse des Wassers, besonders im strömenden Wasser, nicht angenommen werden kann, doch möglicherweise auf den organischen Substanzen, welche die Umfassung des Wassers bilden, oder ihr anhaften, z. B. auf den Wandungen hölzerner Wasserleitungen etc., eine wirksame Konkurrenz pathogener und nicht pathogener Arten zu Stande kommt. Endlich ist bei den Erwägungen über die hygienische Bedeutung der Wasserbakterien nicht zu vergessen, dass unsere Laboratoriumsversuche mit Kulturen sich stets in wenigen Wochen abspielen, während die Natur sich längerer Zeiträume bedient, in welchen auch ein schwacher Antagonismus deutliche Wirkungen haben kann.

Ich zweifle nicht daran, dass alle diese Fragen, betreffend den Antagonismus der Bakterien in Trinkwasser, auch direct experimentel geprüft werden können; vorläufig lag es mir daran, für derartige Versuche durch die einfachere Untersuchung über den Antagonismus einer der häufigsten Wasserbacterienspezies in Kulturen eine Basis zu gewinnen.

* * *

Es sei mir noch zum Schluss gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Sahli, für die Anregung zu dieser Arbeit und seine gütige Unterstützung meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

¹⁾ Vielleicht lassen sich auch die Erfahrungen von Karlinsky, wonach Typhusbacillen in Cysternen sich nur kurze Zeit halten, am besten durch den Antagonismus der Bakterien erklären. (Karlinsky, Archiv für Hygiene 1890, pag. 464. Ref. in Fortschritte der Medizin, 1891, Bd. 1, pag. 22.)



